

## HUBUNGAN ANTARA KARAKTERISTIK SPERMA DALAM MANI BEKU DENGAN KEBERHASILAN INSEMINASI BUATAN PADA SAPI PERAH FRISSIAN HOLSTEIN

Ahmad Taofik

Jurusan Agroteknologi, Fakultas Sains dan Teknologi – UIN SGD Bandung

Email : taofikuin@gmail.com

### ABSTRACT

The objective of this research was to evaluate of the relationship between sperm characteristics of frozen semen to artificial insemination results. The measurement of artificial insemination results were non return rate (NR) and conception rate (CR). The measurement of sperm characteristics were progressive motility, sperm membrane intact and acrosome intact. The correlation of sperm progressive motility, sperm membrane plasm intact and sperm acrosome intact to NR were 0,198, 0,216 and 0,968 respectively. The correlation of sperm progressive motility, sperm membrane plasm intact and sperm acrosome intact to CR were 0,100, 0,194 and 0,917 respectively. Based on all data, the sperm acrosome intact was high correlation to artificial insemination results.

### Pendahuluan

Inseminasi buatan (IB) merupakan suatu teknik perkawinan yang bertujuan untuk mempercepat peningkatan populasi dan mutu genetik ternak. Penggunaan teknik IB pada ternak besar seperti sapi dan kerbau lebih memasyarakat dibanding ternak lainnya. Mani yang digunakan untuk IB dapat berupa mani cair atau mani beku. Mani beku memiliki daya simpan yang lebih lama dan lebih mudah diangkut sehingga lebih sering digunakan dalam program IB. Mani beku sapi telah populer digunakan dalam program IB, karena pemerintah telah mendirikan lembaga pengolah mani yaitu Balai Inseminasi Buatan (BIB) Lembang dan Singosari yang khusus memproduksi mani beku sapi. Kemasan mani beku yang diproduksi oleh kedua instansi tersebut adalah dalam bentuk *straw*.

Setelah melewati uji mutu di BIB, jalur distribusi mani beku dari BIB ke konsumen dibedakan menurut kegiatan usaha peternakan. Jalur distribusi untuk perusahaan peternakan adalah BIB – Dinas Peternakan Propinsi – Dinas Peternakan Kabupaten/ Kota – Inseminator – Peternakan. Jalur

distribusi untuk peternakan rakyat adalah BIB – GKSI – KUD – Inseminator – Peternak.

Dengan memperhatikan jalur distribusi tersebut, terlihat adanya kegiatan pemindahan mani beku dari satu kontainer ke kontainer lain dengan frekuensi yang cukup tinggi dan waktu yang cukup lama. Karena proses pemindahan tersebut, kontak mani beku dengan temperatur sekitar tidak dapat dihindari, akibatnya sperma dalam straw mengalir cekaman fluktuasi temperatur yang berulang-ulang. Selain itu, adanya proses pemindahan mani beku dari satu kontainer ke kontainer lainnya akan menyebabkan terjadinya peningkatan temperatur straw, penguapan N<sub>2</sub> cair dalam kontainer cepat menyusut; akibatnya timbul perubahan temperatur yang dapat mengganggu kestabilan mutu mani beku, pada akhirnya akan menurunkan keberhasilan IB.

Tolok ukur keberhasilan pelaksanaan IB dapat dinilai dari berbagai segi seperti jumlah betina yang tidak minta kawin lagi setelah IB (non return rate = NR), jumlah IB untuk setiap kebuntingan (service per conception = S/C), jumlah

betina yang bunting dalam kurun waktu tertentu (conception rate = CR), dan yang paling penting adalah jumlah anak yang dihasilkan dan hidup dalam satu kurun waktu tertentu.

Banyak faktor yang mempengaruhi keberhasilan IB, bila dilihat dari faktor mani adalah jumlah sperma potensial yang terkandung dalam dosis IB. Menurut para ahli, potensi sperma dalam membuahi sel telur dapat diduga dengan menilai motil progresif, keutuhan membran dan keutuhan akrosom sperma yang menggambarkan kualitas mani.

## Bahan dan Metode Penelitian

### Sampel Penelitian

Mani beku yang dijadikan sampel penelitian adalah **batch** mani beku produksi BIB Lembang yang digunakan di wilayah kerja KUD. Jumlah **batch** yang digunakan saat penelitian adalah 20 **batch**. Ternak sapi perah FH betina yang menjadi pengamatan adalah yang berada di wilayah kerja KUD dan menjadi akseptor program IB. Jumlah sapi yang di IB oleh setiap **batch** berkisar antara 50 hingga 100 ekor.

### Pengukuran Variabel

#### Keberhasilan IB

Non Return Rate (NR). Non return rate adalah jumlah betina yang tidak menunjukkan gejala berahi lagi setelah di IB. NR dihitung dengan persamaan :

$$NR = \frac{\text{jumlah betina tidak berahi lagi}}{\text{jumlah betina yang di IB}} \times 100 \%$$

Conception Rate (CR). Conception rata adalah jumlah betina yang dinyatakan bunting setelah di IB. Pengujian kebuntingan dilakukan dengan metode palpasi per rektal. CR dihitung dengan persamaan :

$$CR = \frac{\text{jumlah betina bunting}}{\text{jumlah betina yang di IB}} \times 100 \%$$

## Karakteristik Sperma

Motil Progresif Sperma. Motil progresif sperma (MP) adalah taksiran jumlah sperma yang bergerak maju ke depan. Sperma yang bergerak ditempat, bergerak melingkar dan bergerak mundur dianggap mati karena tidak memiliki potensi untuk membuahi sel telur. Metode pengamatan menggunakan kamar hitung Neubauer, diamati dengan mikroskop cahaya pada perbesaran 10 x 40. MP dihitung dengan persamaan :

$$MP = \frac{\text{jumlah sperma motil progresif}}{\text{jumlah sperma teramati}} \times 100 \%$$

### Keutuhan Membran Plasma Sperma.

Keutuhan membran plasma sperma (KM) adalah taksiran jumlah sperma yang memiliki membran utuh. KM diukur dengan menggunakan metode Jayendran dan Zaneveld (Hafez, 1993 b) yaitu dengan mengamati jumlah sperma yang menggembung setelah diinkubasi dengan larutan hipoosmotik pada temperatur 37°C selama 60 menit. Sperma mengalami menggembung karena cairan hipoosmotik masuk ke dalam sel sperma, dan hal ini menunjukkan membran plasma sperma utuh atau tidak mengalami kebocoran. Pengamatan dilakukan terhadap paling sedikit 200 sel sperma dari setiap **batch** mani beku. KM dihitung dengan persamaan :

$$KM = \frac{M}{M + TM} \times 100 \%$$

Keterangan :

KM = Sperma dengan membran utuh  
M = sperma menggembung  
TM = sperma tidak menggembung

Keutuhan Akrosom. Keutuhan akrosom (KA) diamati dengan metode *supravital triple staining technique* berdasarkan Hafez (1993 b). Sampel mani yang akan diuji ditambah larutan PBS, kemudian diendapkan selama 4 jam. Setelah proses pengendapan, endapan yang diperoleh diambil dengan menggunakan pipet

pasteur, selanjutnya ditambah larutan *trypan blue* 2 % dalam PBS dan diinkubasi selama 15 menit pada temperatur 38°C. Setelah diinkubasi, dari sediaan dibuat preparat ulas, amati dengan mikroskop *fase kontras* pada pembesaran 10 x 100. Penilaian keutuhan akrosom dilakukan terhadap sperma dengan akrosom utuh dan hidup, total sperma yang diamati dari setiap sampel, paling sedikit 200 sel sperma. KA dihitung dengan persamaan :

$$KA = \frac{\text{jumlah sperma hidup dengan akrosom utuh}}{\text{jumlah sperma total pengamatan}} \times 100 \%$$

### **Analisis Data**

Data pengamatan yang diperoleh, selanjutnya dianalisa dengan metode analisis regresi dan korelasi berganda dengan model persamaan :

$$Y_i = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \epsilon_i$$

Fungsi penduga :

$$Y = b_0 + b_1 X_1 + b_2 X_2 +$$

$b_3 X_3$

Y = keberhasilan IB

1. Non Return Rate (NR)

2. Conception Rate (CR)

$x_1$  = motil progresif sperma

$x_2$  = keutuhan membran sperma

$x_3$  = keutuhan akrosom sperma

Guna mengukur kedekatan hasil pengamatan dengan bidang regresi, dilakukan perhitungan koefisien korelasi dan koefisien determinasi.

### **Hasil dan Pembahasan**

#### **Karakteristik Sperma.**

Rataan motil progresif sperma sampel pengamatan adalah  $43,2908 \pm 15,0916$  %. Rataan motil progresif sperma segera setelah *thawing* yang diperoleh Breuer dan Wells (1977), Pace dkk., (1981),

Schenk dkk (1987), Nadir dkk., (1993), dan Hunter (1995), secara berurutan adalah 72,1 %, 51,4 %, 54,25 %, 60,00 % dan 72,1 %. Rataan motil progresif sperma yang diperoleh dalam penelitian ini lebih rendah dibanding yang diperoleh peneliti sebelumnya, namun bila dikaitkan dengan cara perolehan mani beku untuk penelitian ini, yaitu dari fihak inseminator, maka dapat dipastikan bahwa kondisi motil progresif sperma saat diuji di BIB Lembang lebih besar dari angka yang diperoleh dalam penelitian ini. Rendahnya angka motil progresif sperma dalam penelitian ini, kemungkinan besar akibat adanya pemindahan *straw*. Sebelum sampai ke tangan inseminator, mani beku mengalami tiga kali pemindahan kontainer (BIB – GKS – KUD).

Angka rata-rata keutuhan membran sperma ( $54,8092 \pm 14,8142$  %), lebih tinggi dibanding angka motil progresif sperma ( $43,2908 \pm 15,0916$  %) dan keutuhan akrosom sperma ( $25,4002 \pm 4,6599$  %). Fenomena tersebut menunjukkan bahwa agar sperma mampu melakukan pergerakan progresif dan memiliki akrosom utuh, harus memiliki membran yang utuh. Membran plasma sperma merupakan bagian terluar sperma yang berfungsi melindungi sperma dari pengaruh luar yang membahayakan sperma (Hafez, 1993 a) dan sebagai sarana pengangkutan energi ke seluruh sel sperma untuk aktivitasnya, baik aktivitas metabolisme maupun aktivitas mekanik (pergerakan) (Frandsen, 1993). Kerusakan membran plasma sperma akan mengganggu transpor energi yang diperlukan sperma (Hafez, 1993 b).

Nilai rata-rata prosentase keutuhan akrosom yang diperoleh dalam penelitian ini  $25,4002 \pm 4,6599$  %. Keutuhan akrosom segera sesudah *thawing* yang diperoleh dari penelitian Robbins dkk., (1976), Breuer dan Wells (1977), Pace, dkk., (1981), Smith dan Merilan (1991), DeJarnet dkk., (1992) secara berurutan

adalah 61 %, 43,7 %, 82,9 %, 90,5 % dan 89 %. Perbedaan tersebut kemungkinan disebabkan oleh metode yang digunakan. Robbins dkk., (1976), Pace, dkk., (1981), Smith dan Merilan (1991), DeJarnet dkk., (1992), dalam penilaian akrosom menggunakan metode penilaian *apical ridge* (bagian tudung akrosom), sehingga tidak diketahui apakah sperma yang diamati dalam keadaan hidup atau mati. Sedangkan Breuer dan Wells (1977), menggunakan metode pewarnaan namun tidak memisahkan sperma yang mati dengan yang hidup. Dalam penelitian ini, sperma yang dikategorikan memiliki akrosom utuh harus dalam keadaan hidup, karena walaupun akrosomnya utuh tetapi bila sperma dalam keadaan mati, maka sperma tersebut tidak akan mampu membuahi sel telur.

#### Hubungan antara Karakteristik Sperma dalam Mani Beku dengan Prosentase NR

Rataan nilai NR yang diperoleh dalam penelitian ini adalah  $71,3123 \pm 5,8375$  %. Rataan nilai NR hasil penelitian Almquist dkk., (1982) dan Schenk dkk., (1987), masing-masing adalah 66,3 % dan 67 %. Perbedaan tersebut disebabkan perbedaan waktu pengamatan, Almquist dkk (1982) dan Schenk dkk., (1987), menghimpun nilai NR hingga waktu hari ke 60 – 90 setelah IB, sedangkan dalam penelitian ini, nilai NR dihitung sejak pelaksanaan IB hingga siklus berahi berikutnya (18 – 21 hari).

Prosentase NR diartikan sebagai jumlah betina yang tidak berahi kembali setelah di IB. Berhentinya berahi sesudah perkawinan menunjukkan kebuntingan telah terjadi, walaupun berahi kembali dapat terjadi pada 3 hingga 5 persen sapi-sapi yang bunting, terutama pada 3 bulan pertama kebuntingan (Hafez, 1993a). Pada sapi perah, nilai NR hasil IB berkisar antara 65 % hingga 72 %, angka tersebut biasanya 5 % hingga 6 % lebih tinggi dari angka kebuntingan yang sebenarnya (Jainudeen dan Hafez, 1993).

Nilai penduga untuk persamaan regresi hubungan antara karakteristik sperma dalam mani beku dengan prosentase NR yang diperoleh adalah sebagai berikut :  $b_0 = 38,8313$ ,  $b_1 = 0,0429$ ,  $b_2 = 0,0033$ ,  $b_3 = 1,1983$ ; sehingga diperoleh bentuk persamaan regresi :

$$NR = 38,8313 + 0,0429 X_1 + 0,0033 X_2 + 1,1983 X_3$$

Koefisien determinasi ( $R^2$ ) untuk hubungan antara karakteristik sperma dalam mani beku dengan prosentase NR dalam penelitian ini adalah 0,949, yang berarti bahwa 94,90 % nilai NR dapat diterangkan oleh  $X_1$  (motil progresif sperma),  $X_2$  (keutuhan membran sperma) dan  $X_3$  (keutuhan akrosom sperma) dengan persamaan regresi yang diperoleh, sedangkan sisanya 5,10 % merupakan faktor lain yang tidak diamati. Karakteristik sperma dalam mani beku berhubungan sangat erat dengan prosentase NR, hal tersebut tergambarkan dari nilai koefisien korelasi ganda ( $r$ ) yang diperoleh, yaitu 0,974 atau 97,40 %. Hasil perhitungan koefisien korelasi parsial masing-masing peubah karakteristik sperma dengan prosentase NR menunjukkan bahwa keutuhan akrosom memiliki hubungan yang paling erat ( $r = 0,968$ ) dibanding motil progresif ( $r = 0,198$ ) dan keutuhan membran ( $r = 0,206$ ). Hasil analisis jalin (path analysis) menunjukkan bahwa keutuhan akrosom ( $X_3$ ) berpengaruh besar (96,78 %) terhadap prosentase NR, dibanding motil progresif (19,81 %) dan keutuhan membran (20,65 %). Besarnya efek  $X_3$  terhadap prosentase NR merupakan bukti bahwa keutuhan akrosom merupakan penentu berhasilnya proses fertilisasi.

Walaupun bukan suatu proses reproduksi, fertilisasi merupakan tahapan awal proses reproduksi seksual. Burks dan Saling (1992) menyatakan bahwa fertilisasi merupakan serangkaian proses kejadian yang diawali oleh pengaktifan sperma oleh sel telur, diikuti dengan aktivasi sel telur oleh sperma. Keberhasilan

penetrasi sel telur oleh sperma dipengaruhi oleh jumlah sperma yang diinseminasikan, sedangkan daya perkembangan zigot, bila dilihat dari sumbangan jantan ditentukan oleh kualitas sperma yang berhasil melakukan penetrasi (Den Daas dkk., 1992).

Sebelum dapat melakukan penetrasi, sperma harus mengalami proses kapasitasi terlebih dahulu, yaitu perubahan kandungan bagian permukaan sperma sehingga lapisan fosfolipid menjadi tidak stabil. Ketidakstabilan lapisan fosfolipid membran plasma sperma menyebabkan terjadinya aktivasi kromosom yang merupakan awal terjadinya reaksi akrosom. Reaksi akrosom meliputi bersatunya membran plasma sperma dengan membran akrosom bagian luar sehingga terjadi peronggaan akrosom bagian anterior. Bersatu dan terjadinya peronggaan bagian anterior akrosom menyebabkan terjadinya aktivasi enzim-enzim hidrolitik seperti hyaluronidase, proakrosin, esterase, aryl-sulfatase,  $\beta$ -N-acetyl glucosamidase, dan "non spesifik acid proteinase (Bazer dkk., 1993). Proses kapasitasi merupakan seleksi guna mencegah terjadinya pembuahan oleh sperma yang memiliki akrosom prematur. Dengan kata lain, reaksi akrosom hanya terjadi apabila membran akrosom yang dimiliki sperma dalam keadaan utuh.

#### Hubungan antara Karakteristik Sperma dalam Mani Beku dengan Prosentase CR

Prosentase CR yang diperoleh dalam penelitian ini adalah  $52,8754 \pm 3,2137 \%$ . Nilai penduga untuk persamaan regresi hubungan antara karakteristik sperma dalam mani beku dengan prosentase CR adalah  $b_0 = 10,7854$ ,  $b_1 = 0,0014$ ,  $b_2 = 0,0240$ ,  $b_3 = 1,6028$ .

Berdasarkan nilai penduga tersebut, persamaan regresi yang diperoleh adalah :

$$CR = 10,7854 + 0,0014 X_1 + 0,0240 X_2 + 1,6028 X_3$$

Koefisien determinasi ( $R^2$ ) untuk hubungan antara karakteristik sperma dalam mani beku dengan prosentase CR dalam penelitian ini adalah 0,843, yang berarti bahwa 84,30 % nilai CR dapat diterangkan oleh  $X_1$  (motil progresif sperma),  $X_2$  (keutuhan membran sperma) dan  $X_3$  (keutuhan akrosom sperma) dengan persamaan regresi yang diperoleh, sedangkan sisanya 15,70 % merupakan faktor lain yang tidak diamati. Koefisien korelasi ganda ( $r$ ) yang diperoleh adalah 0,918 atau 91,8 %, hal ini menunjukkan karakteristik sperma dalam mani beku berhubungan sangat erat dengan prosentase CR. Hasil perhitungan koefisien korelasi parsial masing-masing peubah karakteristik sperma menunjukkan bahwa keutuhan akrosom memiliki hubungan yang paling erat ( $r = 0,917$ ) dibanding motil progresif sperma ( $r = 0,100$ ) dan keutuhan membran ( $r = 0,194$ ). Hasil analisis jalin menunjukkan bahwa keutuhan akrosom ( $X_3$ ) berpengaruh besar (91,68 %) terhadap prosentase CR, dibanding motil progresif sperma (9,97 %) dan keutuhan membran (19,43 %). Besarnya efek keutuhan akrosom terhadap prosentase CR merupakan bukti bahwa keutuhan akrosom ikut menentukan proses perkembangan zigot pada awal kebuntingan.

Keutuhan akrosom sperma diperkirakan berpengaruh terhadap jumlah sperma yang mampu menembus daerah zona pellucida sel telur. Hafez (1993 a) mengemukakan bahwa pada mamali proses fertilisasi berlangsung dalam tiga tahap, yaitu migrasi sperma diantara sel kumulus ovum, penembusan zona pellucida sel telur oleh sperma dan diakhiri bersatunya membran plasma sperma dengan membran sel telur.

Walaupun pada akhirnya hanya satu sperma yang akan mampu menembus membran vitellin sel telur, namun dengan banyaknya sperma dengan akrosom utuh maka jumlah sperma yang dapat



menembus (terperangkap dalam) zona pellucida, kemungkinan lebih dari satu sperma. Menurut hasil penelitian DeJarnet dkk., (1992), kualitas embrio hasil fertilisasi ikut dipengaruhi oleh jumlah sperma yang mampu menembus daerah zona pellucida (accessory sperm). Munkittrick dkk., (1992) melaporkan bahwa terdapat hubungan yang sangat erat antara jumlah *accessory sperm* dengan kualitas embrio. Semakin banyak jumlah *accessory sperm*, semakin baik kualitas embrio yang diperoleh sehingga mampu berkembang lebih lanjut.

### Kesimpulan

Berdasarkan hasil analisis statistik dan pembahasan, disimpulkan sebagai berikut :

1. Terdapat hubungan yang erat antara karakteristik sperma dalam mani beku dengan prosentase NR ( $r = 0,974$ ) dan prosentase CR ( $r = 0,918$ ).
2. Keutuhan akrosom sperma sangat berpengaruh terhadap prosentase NR dan CR.

### Daftar Pustaka

- Almquist, J.O., C.H. Allen dan r.J. Branas. 1982. Effect of Fertility of freezing large Number of Bovine Spermatozoa in Mechanical Freezer. J. Anim. Sci. 55 : 232 – 234
- Bazer, F.W., R.D. Geisert dan M.T. Zavy. 1993. Fertilization, Cleavage and Impalntation dalam E.S.E. Hafez (ed). Reproduction in Farm Animal. 5<sup>th</sup> Edition. Lea & Febiger. Philadelphia. Halaman : 188 – 212
- Breuer, D.J. dan M.E. Wells. 1977. Effects of *in vitro* incubation of Bovine Spermatozoa in Bovine Follicular Fluid. J. Anim. Sci. 44 : 262 – 265.
- Burks, D.J. dan P.M. Saling. 1992. Molecular Mechanism of Fertilization and Activation of Development. Anim. Reprod. Sci. 28 : 79 – 86
- DeJarnette, J.M., R.G. Saacke, J. Bame dan C.J. Vogler. 1992. Accessory Sperm : Their Importance to Fertility and Embryo Quality, and Attempts to Alter Their Number in Artificially Inseminated Cattle. J. Anim. Sci. 70 : 484
- Den Daas, N. 1992. Laboratory Assessment of Semen Characteeristics. Anim. Reprod. Sci. 28 ; 87 – 94.
- Frandsen, R.D. 1993. Anatomi dan Fisiologi Ternak (anatomy and Physiology of Farm Animal). Terj. Srigandono, B dan Praseno, K. Gadjah Mada Univ. Press. Yogyakarta
- Hafez, E.S.E. 1993 a. Transport and Survival of Gametes. dalam E.S.E. Hafez (ed). Reproduction in Farm Animals. 5<sup>th</sup> Edition. Lea & Febiger. Philadelphia. Halaman : 144 – 164.
- Hafez, E.S.E. 1993 b. Semen Evaluation. dalam E.S.E. Hafez (ed). Reproduction in Farm Animals. 5<sup>th</sup> Edition. Lea & Febiger. Philadelphia. Halaman : 405 - 423.
- Hunter, A.G. 1984. Towards 100 % Fertilization in Inseminated Cows with Particular Reference to the

- Site of Sperm Storage. A.B.A. 52 : 1 – 5
- Jainudeen, M.R. dan E.S.E. Hafez. 1993. Pregnancy Diagnosis *dalam* E.S.E. Hafez (ed). Reproduction in Farm Animals. 5<sup>th</sup> Edition. Lea & Febiger. Philadelphia. Halaman : 446 – 460.
- Munkittrick, T.W., R.L. Nebel dan R.G. Saacke. 1992. Accessory Sperm Number for Cattle Inseminated with Protamine Sulfate Microcapsules. J. Dairy Sci. 75 : 725 – 731
- Nadir, S., R.G. Saacke, J.Bame, J. Mullins dan S. Degelos. 1993. Effects of freezing Semen and Dosage of Sperm on Number of Accessory Sperm, Fertility and Embryo Quality in Artificially Inseminated Cattle. J. Anim. Sci. 71 : 199 – 204
- Pace, M.M., J.J. Sullivan, F.I. Elliot, E.F. Graham dan G.H. Coulter. 1981. Effects of Thawing Temperature, Number of Spermatozoal Quality on Fertility of Bovine Spermatozoa Package in 0,5 ml French Straw. J. Anim. Sci. 53 : 693 – 701
- Robbins, R.K., R.G. Saacke dan T. Chandler. 1976. Influence of Freeze Rate, Thaw Rate and Glycerol Level on Acrosomal Retention and Survival of Bovine Spermatozoa Frozen in French Straw. J. Anim. Sci. 42 : 145 – 154
- Schenk, J.L., R.P. Amann dan C.H. Allen. 1987. Effects of Extender and Insemination Dose on Postthaw Quality and fertility of Bovine Sperm. J. Dairy Sci. 70 : 1458 – 1464
- Smith, J.F., dan C.P. Merilan. 1991. Liner Collection Cone and pH Effects on Postthaw Motility, Staining and Acrosome of Bovine Spermatozoa. J. Dairy Sci. 74 : 1310 - 1313